



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Doenças Infeciosas

Papel da infeção por EBV nas doenças autoimunes

Marta Isabel Magriço

JUNHO'2018



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Doenças Infecciosas

Papel da infeção por EBV nas doenças autoimunes

Marta Isabel Magriço

Orientado por:

Dr. Tiago Marques

JUNHO 2018

Resumo

As doenças autoimunes são um grupo de doenças do tecido conjuntivo cuja etiologia ainda não é totalmente clara, mas que se sabe depender de fatores genéticos e ambientais. Estudos recentes associam a infecção pelo vírus Epstein-Barr (EBV) como um dos fatores ambientais que contribui para o desenvolvimento de várias doenças autoimunes.

Este artigo irá focar-se principalmente no papel da infecção por EBV no desenvolvimento de lúpus eritematoso sistémico (LES), na esclerose múltipla (EM) e ainda na artrite reumatóide (AR), resumindo os dados existentes sobre os mecanismos implicados na génese de autoimunidade por EBV, dados epidemiológicos disponíveis e evidências conhecidas.

PALAVRAS – CHAVE: vírus Epstein-Barr; doenças autoimunes; lúpus eritematoso sistémico; esclerose múltipla; artrite reumatoide

Abstract

Systemic autoimmune diseases are a group of connective tissue diseases that don't have a clear etiology yet, but a number of genetic and environmental factors are known to influence the incidence of these diseases. Recent findings link the infection by Epstein-Barr virus (EBV) as one of the environmental factors that are implicated in the autoimmune diseases development.

This review focuses mainly on the role played by Epstein-bar virus on the development of systemic lupus erythematosus (SLE), rheumatoid arthritis (RA) and multiple sclerosis (MS), summing up the existing data linking EBV with these diseases and the immunological mechanisms that might explain this association.

KEYWORDS: Epstein-Barr virus; autoimmune diseases; systemic lupus erythematosus; multiple sclerosis; rheumatoid arthritis

O Trabalho Final de Mestrado Integrado em Medicina exprime a opinião do autor e não a da FMUL

Índice

Resumo.....	3
Abstract.....	3
Lista de abreviaturas	5
Introdução.....	6
Epstein-Barr: Biologia.....	7
Papel da infecção pelo vírus Epstein-Barr na autoimunidade.....	8
EBV e LES.....	10
EBV e EM.....	13
EBV e AR.....	16
Conclusão.....	19
Agradecimentos.....	20
Referências bibliográficas.....	21

Lista de abreviaturas

ANA - Anticorpo anti-nuclear

Anti-CCP - Anticorpo anti-péptido cíclico citrulinado

Anti-dsDNA - Anti- DNA de dupla hélice

Anti-EA - Anticorpo antígenos precoces

Anti-Sm - Anti-smith

Anti-VCA - Anticorpo antígeno capsular viral

AR - Artrite reumatoide

EBNA 1 - EBV nuclear antigen 1

EBNA 2 - EBV nuclear antigen-2

EBNA 3 - EBV nuclear antigen-3

EBV - Epstein- Barr vírus

EM- Esclerose múltipla

FR - Fator reumatóide

Gp110 - Glicoproteína 110

HERVs - Human endogenous retrovirus

LES - Lupus Eritematoso Sistémico

LMP - Latent membrane protein

MHC - Major Histocompatibility Complex

PCR - Polymerase Chain Reaction

RANA- Antígeno nuclear da artrite reumatoide

SNC - Sistema nervoso central

Introdução

As doenças autoimunes fazem parte de um vasto grupo de doenças do tecido conjuntivo [1]. Atualmente, a etiologia que está na origem destas doenças, ainda não é totalmente clara, mas pensa-se que seja multifatorial, resultando de uma complexa interação entre genética (onde o complexo major de histocompatibilidade (MHC) desempenha o maior papel) e fatores ambientais, que podem ir desde o mês de nascimento, até à distribuição geográfica a nível mundial [2]. No entanto, verificou-se que a maioria dos gémeos monozigóticos é discordante, o que acabou por sugerir que uma grande parte do risco que um indivíduo tem de vir a desenvolver uma doença autoimune resulte dos fatores ambientais [3].

Esta descoberta abriu caminho para que nos últimos anos, vários agentes infecciosos tenham sido propostos como fatores ambientais implicados no desenvolvimento de uma doença autoimune [4]. E tem sido nesta linha de investigação que a infeção por EBV tem sido associada a várias doenças autoimunes, desde o lúpus eritematoso sistémico (LES), à artrite reumatóide (AR), esclerose múltipla (EM), tiroidite autoimune, miastenis gravis e também a doenças hepáticas autoimunes [4].

Nesta revisão o principal foco será atribuído ao papel da infeção por EBV no desenvolvimento de LES, EM e de AR procurando rever os dados existentes sobre os mecanismos implicados na génese de autoimunidade por EBV, dados epidemiológicos disponíveis e evidências conhecidas.

EBV: Biologia

O vírus Epstein-Barr é um vírus de DNA de cadeia dupla que pertence à família *γ-herpesviridae* e que tem no humano o principal hospedeiro, sendo que se estima que aproximadamente 95% da população mundial tenha sido infetada em alguma fase da vida por este vírus [5,6].

A infecção primária dá-se na grande maioria dos casos na infância, de forma assintomática [1]. No entanto, se a infecção ocorrer numa fase mais tardia da vida, como na adolescência ou na fase adulta, pode manifestar-se por um quadro de mononucleose infecciosa, clinicamente caracterizado por febre, linfadenopatias cervicais e faringite [7,8]. Na maioria dos casos a infecção é autolimitada, mas se crónica pode associar-se ao desenvolvimento de neoplasias malignas, principalmente da linhagem B.

O vírus atinge concentrações elevadas na saliva de indivíduos infetados, através da qual se dá a transmissão, sendo posteriormente transcrito na superfície mucosa da oro e nasofaringe [9]. Subsequentemente, o vírus acaba por infetar os linfócitos B, que são o seu principal alvo e também células epiteliais [10].

O ciclo de vida do vírus inicia-se com a transmissão através da saliva de um indivíduo infetado [11]. À qual se segue a infecção do principal alvo deste vírus, os linfócitos B localizados no tecido linfoide do anel de Waldeyer da orofaringe [6], nesta fase o vírus Epstein-Barr ativa o seu programa de crescimento, para despoletar a proliferação dos linfócitos B infetados. A infecção destas células por EBV leva a que estas se transformem em células linfoblastóides que migram para os centros germinais do tecido linfoide, originando células B de memória. Esta fase dá pelo nome de fase latente, uma fase onde apenas ocorre produção de proteínas pouco imunogénicas, das quais o destaque vai para a EBV nuclear antigen 1 (EBNA-1), que permite que o genoma viral continue em replicação [12].

O vírus pode manter-se na fase latente durante toda a vida do hospedeiro, com concentrações baixas e constantes ou reativar em resposta a situações particulares, como a imunossupressão do hospedeiro [12]. Nesta fase, o vírus adquire a capacidade de replicar o seu DNA, infetar novas células e novos hospedeiros [6]. Durante a fase lítica o vírus tem a capacidade de expressar todas as proteínas que o seu genoma codifica, ao contrário do que sucedia na fase latente [13].

O genoma do vírus codifica várias proteínas que são expressas na fase lítica e que apresentam capacidade de funcionarem como antígenos [13]. São exemplo destas proteínas, a EBNA-1, a EBV nuclear antígeno 2 (EBNA-2) e a EBV nuclear antígeno 3 (EBNA-3) e ainda as latent protein membrane (LMP) de tipo 1 e 2 que permitem às células B infectadas não sofrerem apoptose, através da inibição da via do interferão e ainda das células T [14].

Papel da infecção por EBV na autoimunidade

É preciso recuar até 1971 para encontrar a primeira associação entre o vírus Epstein-Barr e as doenças autoimunes. Esta associação é feita pela primeira vez por Evans que observou que numa população de doentes com lúpus eritematoso sistémico, estes apresentavam títulos de anticorpos contra o vírus Epstein-Barr aumentados relativamente aos valores encontrados numa população de indivíduos saudáveis. Esta descoberta levou pela primeira vez os investigadores a ponderar o papel do vírus Epstein-Barr no desenvolvimento das doenças autoimunes [17].

Atualmente, as evidências de que o vírus Epstein-Barr está implicado na patogénese de inúmeras doenças autoimunes já são várias e algumas semelhanças do ciclo de vida do vírus com a história natural das doenças autoimunes levam-no a ser considerado um bom candidato a agente etiológico deste grupo de doenças, a título de exemplo:

- No seu ciclo de vida o vírus pode alternar entre uma fase latente e a reativação, o que pode estar em relação com a alternância de períodos de exacerbação e remissão das doenças autoimunes [1];
- A infecção por EBV leva frequentemente ao aparecimento de anticorpos em circulação, como o fator reumatóide (FR), associados a algumas doenças autoimunes [19].

No entanto, esclarecer a forma como o vírus Epstein-Barr induz autoimunidade tem sido o maior desafio para que o vírus seja eleito como um dos agentes etiológicos das doenças autoimunes [20]. A infecção por EBV influencia a resposta imunitária do hospedeiro tanto diretamente, através da infecção dos linfócitos como indiretamente através da expressão de várias proteínas com capacidade imunomoduladora, o que permite que a discussão dos mecanismos pelo qual o vírus leva a autoimunidade seja vasta

[21]. Atualmente já são conhecidos alguns mecanismos que contribuem para o desenvolvimento de autoimunidade na infecção por EBV, a saber:

1. No ciclo de vida do vírus Epstein-barr existe produção de proteínas com propriedades antiapoptóticas que vão impedir os linfócitos B infectados de serem submetidos à apoptose. Estes mecanismos acabam por contribuir para a perda de tolerância e indução de autoimunidade [20].
2. “*Molecular Mimicry*”: Mímica molecular, é uma teoria que defende que existem sequências de proteínas produzidas por agentes microbiológicos, neste caso particular por EBV, que são estruturalmente idênticas às proteínas do hospedeiro, o que leva ao desenvolvimento de uma resposta imunitária através de reações cruzadas, onde as células do sistema imunitário são incapazes de distinguir entre o que pertence ao hospedeiro e o que tem origem no agente viral [22] .
3. “*Human endogenous retrovirus (HERVs)*”: São sequências de elementos retrovirais que pertencem ao DNA humano e que constituem 8% do genoma humano. Estas sequências estão presentes devido a infecções por agentes virais exógenos que ocorreram no passado do hospedeiro e que se integraram no genoma [23,24]. Ao longo do tempo, os HERVs têm sido sujeitos a várias amplificações adquirindo a capacidade de produzirem partículas virais [35]. A produção progressiva destas partículas virais acaba por levar a uma resposta inflamatória em crescente contra estas partículas, com produção de quantidades cada vez maiores de citocinas inflamatórias, criando uma resposta inflamatória crónica e células T auto-reativas que contribuem para o desenvolvimento de autoimunidade [23].

EBV e LES

O lúpus eritematoso sistémico é uma doença autoimune com uma incidência 6-35 casos por cada 100 000 habitantes que afeta principalmente o sexo feminino (ratio 9:1) [14]. A apresentação clínica do lúpus é influenciada por diversos fatores como a idade, o género, a idade de apresentação da doença e a etnia [26]. No entanto, as apresentações mais comuns incluem o eritema malar em forma de borboleta, o eritema discoide, fotossensibilidade, úlceras orais, artrite, serosite, nefrite lúpica e alterações hematológicas desde anemia, a linfopenia, trombocitopenia até diminuição do complemento [27]. A história natural da doença é feita através de períodos de exacerbação que alternam com períodos de remissão [1].

Outro aspeto que tipicamente caracteriza o LES é a presença de auto-anticorpos, sendo os mais prevalentes os anticorpos anti-nucleares (ANA), os anticorpos anti- DNA de dupla hélice (anti-dsDNA) e embora com menos frequência, os anti-Smith (anti-sm) e anti-Ro [28].

A etiologia do LES está longe de estar esclarecida e vários estudos têm apontado o vírus Epstein-Barr como um dos agentes etiológicos implicados no desenvolvimento de lúpus [1]. Aliás, como referido anteriormente nesta revisão, a primeira evidência da participação do vírus Epstein-Barr nas doenças autoimunes foi feita em doentes com lúpus eritematoso sistémico.

As evidências da relação entre a infeção por EBV e o LES, começam numa série de evidências epidemiológicas. Desde logo, a maior seropositividade para EBV na população de doentes com LES relativamente aos valores encontrados na população saudável, como se constata em vários estudos realizados, onde a população com LES tende a apresentar seropositividade para EBV mais alta, de cerca de 99,5%, em oposição a 95% nos controlos saudáveis. Esta diferença foi considerada estatisticamente significativa e não foi demonstrada com mais nenhum vírus em estudo, a saber citomegalovírus, herpes vírus 1 e herpes vírus 2 [29].

Para além disso, observou-se que doentes com LES têm um aumento de aproximadamente dez vezes no número de linfócitos B infetados por EBV quando comparado aos resultados dos controlos saudáveis [30]. Este aumento do número de linfócitos B está associada com a atividade do lúpus eritematoso sistémico [1].

Já quando se comparam valores de virémia em indivíduos com LES com os valores obtidos numa população saudável, verifica-se que estes têm um aumento da virémia de cerca de quarenta vezes, o que sugere que doentes com LES têm o vírus Epstein-Barr principalmente na sua fase lítica (replicativa) [1]. Sendo que este aumento da virémia, consequência da reativação do vírus Epstein-Barr, parece relacionar-se com as exacerbações da doença [1].

Estes achados sugerem que a infeção por EBV segue um curso diferente nos doentes que apresentam suscetibilidade genética para o desenvolvimento de LES, com a infeção por EBV nestes doentes a ser maioritariamente crónica, persistente e caracterizada por várias reativações do vírus, ao invés de se apresentar latente com níveis baixos e constantes de virémia como sucede na população saudável infetada por EBV que não desenvolve LES[6].

Além das diferenças nos valores de seropositividade, também os títulos de anticorpos contra os antígenos precoces de EBV encontram-se mais elevados nos doentes com LES quando comparados com os títulos dos controlos saudáveis principalmente os anti-EBNA1 [18],

A proteína responsável pela replicação do vírus, EBNA1, é considerada o ponto de partida na génese da autoimunidade ligada à infeção por EBV, bem como na produção de vários anticorpos característicos de LES [31]. A importância desta proteína para o início do desenvolvimento de autoimunidade deve-se às sequências semelhantes que apresenta com os antígenos nucleares sm e ro [32]. Este achado vem de encontro ao defendido pela teoria da mímica molecular onde através de uma forte resposta imunitária e de reações cruzadas com os antígenos sm e ro do hospedeiro ocorre produção de auto-anticorpos anti-Sm e anti-ro característicos do LES [33]. Além disso, percebeu-se que estes anticorpos anti-sm e anti-ro, são os primeiros a ser identificados na circulação de doentes com LES e que tipicamente surgem vários anos antes da doença se manifestar clinicamente [34].

Sendo que mais tarde na evolução da doença, através do fenómeno “*epitope spreading*” ocorre produção de anticorpos contra outros determinantes, surgindo em circulação os anti-dsDNA e ainda os ANA [6].

Assim, sabe-se que o curso da infeção por EBV não é igual nos doentes predispostos geneticamente para LES, mas a razão pela qual isto sucede ainda não é totalmente clara. Pensa-se que um dos motivos possa estar relacionado com o controlo deficitário da infeção por EBV em doentes com LES, o que é posto em evidência pela diminuição no número de células T CD8+ citotóxicas específicas contra o vírus Epstein-Barr em doentes com lúpus [35].

Em suma, apesar da associação entre o vírus Epstein-Barr e o lúpus eritematoso sistémico atualmente ser considerada bastante forte, é importante ter presente que o impacto epidemiológico da infeção por EBV é relativamente pequeno [36]. Isto, porque como referido anteriormente, uma grande proporção da população humana, aproximadamente 95%, está infetada pelo vírus Epstein-Barr e no entanto, apenas uma pequena parte vem a desenvolver LES. Assim, atualmente acredita-se que seja necessário a combinação da presença de predisposição genética com a infeção por EBV para que o desenvolvimento de autoimunidade ocorra e leve ao desenvolvimento das características sorológicas e clínicas típicas do LES [30].

EBV e EM

A esclerose múltipla é considerada uma doença inflamatória do sistema nervoso central (SNC) que se caracteriza pela perda da bainha de mielina que envolve os axónios dos nervos [37]. A inflamação está presente em todas as formas de esclerose múltipla e associa-se com desmielinização e neurodegeneração que lesam o sistema nervoso central. Na maioria dos casos a doença manifesta-se por episódios caracterizados por défices neurológicos alternados com períodos de latência em que o doente pode ficar assintomático. Com a duração da doença, a frequência das exacerbações aumenta e o período livre de sintomas é cada vez mais curto e o dano cumulativo causado nos nervos, acaba por se manifestar com uma redução progressiva da capacidade motora [38].

Epidemiologicamente, a doença é mais prevalente no sexo feminino (2:1) e a maioria dos doentes apresenta as primeiras manifestações da doença por volta dos 20-40 anos de idade [6].

A esclerose múltipla é uma doença de etiologia heterogénea, resultando da interação de fatores genéticos, localizados principalmente no complexo MHC com alguns fatores ambientais, entre os quais se destaca o vírus Epstein-Barr [39,40].

A primeira evidência de que o vírus Epstein-Barr estaria implicado na patogénese da esclerose múltipla remonta a 1979 e foi feita por Fraser. Neste estudo, observou-se que os linfócitos em circulação de doentes com esclerose múltipla ativa apresentavam uma tendência para se transformarem em células linfoblastóides como ocorre no ciclo de vida do vírus Epstein-Barr [41]. Desde então, várias investigações têm sido feitas no sentido de correlacionar a infeção por EBV, com o desenvolvimento de esclerose múltipla e atualmente, destacam-se as seguintes associações:

1. Serologias positivas para o vírus Epstein-Barr são mais prevalentes em doentes com esclerose múltipla do que em controlos saudáveis. A prevalência de infeção por EBV na população mundial é de aproximadamente 95%, enquanto que nos indivíduos com esclerose múltipla este valor ultrapassa 99%, esta diferença estatística é de tal modo significativa que alguns estudos consideram que o risco de desenvolver esclerose múltipla com serologias negativas para EBV é praticamente negligenciável. [42].

2. A presença de infecção sintomática por EBV no passado, parece relacionar-se com o risco de desenvolver esclerose múltipla. Observou-se que a prevalência de esclerose múltipla é superior entre os doentes que apresentaram uma infecção sintomática, mononucleose –like, no passado, relativamente aos que tiveram infecção por EBV assintomática no início da infância. Sendo que em alguns estudos o risco de desenvolver esclerose múltipla chega a ser o dobro entre os que tiveram mononucleose infecciosa relativamente aos que tiveram uma infecção assintomática. [43]
3. A mononucleose infecciosa e a esclerose múltipla partilham várias características epidemiológicas, nomeadamente o grupo etário de maior incidência, que em ambos os casos ocorre por volta dos 20 anos de idade e ainda compartilham uma maior prevalência em indivíduos caucasianos e provenientes de países industrializados, com boas condições socio-económicas. [44].
4. Os títulos de anticorpos contra o vírus Epstein-Barr relacionam-se com o risco de um indivíduo vir a desenvolver esclerose múltipla no futuro. Num estudo realizado a partir de amostras de sangue de doentes assintomáticos que viriam mais tarde a manifestar esclerose múltipla, observou-se que os títulos de anticorpos contra o vírus Epstein-Barr estavam bastante aumentados, relativamente aos valores encontrados em controlos infetados pelo vírus e que se mantiveram saudáveis. Esta diferença, não foi observada com mais nenhum outro vírus testado no estudo, como o citomegalovírus. Deste modo, foi possível associar o risco de desenvolver esclerose múltipla com a magnitude do valor dos títulos de anticorpos contra o vírus Epstein-Barr, sendo que quando os títulos de anticorpos são da ordem de 1:80, o risco de desenvolver EM no futuro chega a ser 10x superior [45].

Apesar da associação entre o vírus Epstein-Barr e a esclerose múltipla estar cada vez mais esclarecida, os mecanismos que estão na base do desenvolvimento da doença estão longe de ser claros, com várias vias em discussão e evidências contraditórias.

Um dos primeiros mecanismos a serem propostos para explicar o desenvolvimento de esclerose múltipla pela infecção por EBV baseia-se na teoria da mímica molecular. O fundamento teórico desta teoria aplica-se ao desenvolvimento de EM, devido à semelhança estrutural que algumas proteínas do hospedeiro, como a mielina apresentam

com alguns antígenos do vírus Epstein-Barr. Esta semelhança estrutural leva consequentemente ao desenvolvimento de uma resposta inflamatória autoimune através de reações cruzadas [46]. No entanto, embora aceite, esta teoria não parece ser a mais importante para a patogénese da esclerose múltipla associada ao vírus Epstein-Barr, uma vez que se demonstrou que a mielina também apresenta reações cruzadas com outros vírus além do vírus Epstein-Barr [6].

Assim, os investigadores têm procurado explicar a implicação do vírus Epstein-Barr na esclerose múltipla através de outras hipóteses, como a “*Bystander injury hypothesis*”. Esta teoria defende que as células B infetadas por EBV também estão presentes no SNC e quando ocorre a resposta imunitária pelas células T CD8+ específicas contra as células infetadas por EBV, desenvolve-se uma resposta inflamatória que pode levar à lesão do tecido nervoso adjacente como dano colateral desta inflamação [47]. No entanto, apesar de tentadora para que esta hipótese seja aceite é necessário demonstrar a presença de EBV no SNC o que não tem sido totalmente linear, uma vez que existem várias publicações onde a presença de EBV no SNC é controversa [6]. Para além disso, esta hipótese deixa por explicar o papel da autoimunidade no desenvolvimento de esclerose múltipla e por isso não parece ser o mecanismo principal para o desenvolvimento de esclerose múltipla.

O mecanismo que mais consenso tem reunido na comunidade científica para explicar a patogénese da infeção por EBV no desenvolvimento de esclerose múltipla, parece ser a hipótese da infeção por EBV de células B autoreativas proposta por Pender em 2003 [48]. Esta teoria defende que o vírus Epstein-Barr infeta células B autoreativas que se acumulam num determinado órgão alvo, neste caso o SNC, onde produzem autoanticorpos patogénicos e sinais de sobrevivência para as células T autoreativas que caso contrário iriam sofrer apoptose. A teoria explica ainda que a acumulação de células B autoreativas só é possível, devido à existência de predisposição genética para a esclerose múltipla que leva a que haja um defeito na eliminação das células B infetadas pelas células T CD8+ citotóxicas que estão diminuídas na esclerose múltipla [48].

A associação da infeção por EBV à esclerose múltipla, bem como o mais recente reconhecimento da importância das células B na patogénese da doença, pela teoria proposta por Pender tem permitido o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para a esclerose múltipla. Foi graças ao reconhecimento da importância das células B infetadas autoreativas que se descobriu que fármacos como o rituximab, que eliminam as

células B, incluindo as células B infectadas pelo vírus Epstein-Barr têm benefício na esclerose múltipla. A utilização destes fármacos tem ainda contribuído para a diminuição das exacerbações da doença, bem como para a diminuição da inflamação do SNC [49].

Mais recentemente foi reportado um caso de sucesso terapêutico, num doente com esclerose múltipla secundária, com a utilização de uma imunoterapia específica, constituída por células CD8+ contra proteínas da fase latente do vírus Epstein-Barr [49].

EBV e AR

A artrite reumatóide é uma das doenças autoimunes conhecidas mais comuns, com uma prevalência a nível mundial de cerca de 1% e que afeta o sexo feminino cerca de três vezes mais [50, 51]. Nesta doença ocorre destruição da sinovial articular que clinicamente se expressa por um quadro de poliartrite, frequentemente acompanhado de várias manifestações sistémicas, desde envolvimento do sistema cardiovascular, a síndrome metabólica, a fibrose pulmonar até a alterações cutâneas [50]. A etiologia da artrite reumatóide é desconhecida, no entanto à semelhança das outras doenças autoimunes descritas anteriormente, pensa-se que resulte da combinação da existência de suscetibilidade genética, associada ao polimorfismo HLA-DRB1 com fatores ambientais [52]. Vários fatores ambientais têm sido propostos como possíveis causas para o desenvolvimento da AR, entre estes, encontram-se os agentes infecciosos, dos quais se destaca o vírus Epstein-Barr [50].

A primeira evidência da implicação do vírus Epstein-Barr na artrite reumatóide foi descrita por Alsbaugh e Billings em 1981 [53]. Neste estudo os investigadores demonstraram que aproximadamente 67% das amostras de sangue de doentes com AR recolhidas apresentavam anticorpos contra o antígeno nuclear, EBNA-1, contra apenas 8% nas amostras de controlos saudáveis. Esta descoberta foi de tal modo significativa que numa fase inicial o antígeno EBNA-1 foi designado como o antígeno nuclear da artrite reumatoide (RANA) [53].

A associação entre a infecção por EBV e a patogénese da artrite reumatóide é apoiada por algumas observações feitas na população de doentes com artrite reumatóide:

- Os títulos de anticorpos contra antígenos do vírus Epstein-Barr, como os anticorpos anti-EBNA atingem valores mais elevados nos doentes com artrite reumatoide [54];
- A incidência da transformação das células B infetadas em células linfoblastóides é superior nos doentes com artrite reumatóide relativamente aos controlos saudáveis, o que é sugestivo de que a resposta imunitária por parte das células T se encontra fragilizada nestes doentes [54,55].

A patogénese do vírus Epstein-Barr no desenvolvimento de artrite reumatoide, pode em parte ser explicada pela teoria da mímica molecular. Na artrite reumatóide esta teoria é explicada pelas semelhanças entre as sequências QKRAA presentes no polimorfismo HLA-DRB1, que confere suscetibilidade genética para a doença, com algumas proteínas do vírus Epstein-Barr, nomeadamente com a glicoproteína 110 (gp 110) que é expressa durante a fase lítica e que também se encontra na superfície das células linfoblastóides [56,57]. Posteriormente, através de reações cruzadas entre o genótipo HLA e a gp110, há uma resposta imune contra o polimorfismo HLA que contribui para o desenvolvimento de autoimunidade [56].

A artrite reumatoide é uma doença que se caracteriza ainda pela presença de auto anticorpos em circulação como o fator reumatoide (FR) ou o anticorpo anti-péptido cíclico citrulinado (anti-CCP) produzido pelas células B e que é importante tanto para o diagnóstico, como para o prognóstico da doença e que é mais específico quando em comparação com o FR [58].

Mais recentemente observou-se que proteínas produzidas pela infecção pelo vírus Epstein-Barr, como a EBNA-1, podem sofrer reações de citrulinização, tornando-se alvos para o anti-CCP [59]. A presença de péptidos citrulinados produzidos pela infecção por EBV, correlaciona-se com os títulos de anti-CCP em circulação. A presença de títulos elevados de anti-CCP associa-se a pior prognóstico para os doentes com AR [60].

Para além disso, observou-se através de estudos realizados com recurso à técnica *polymerase chain reaction* (PCR), que o DNA do vírus Epstein-Barr está presente no líquido sinovial dos doentes com artrite reumatoide em maior quantidade que em

controles saudáveis [61]. Sendo que, quando se combina a presença de DNA do vírus Epstein-Barr no líquido sinovial das articulações com doentes que tenham o alelo HLA-DRB1 o risco de vir a desenvolver AR no futuro aumenta cerca de quarenta vezes [58].

Mais recentemente tem-se associado a presença do vírus Epstein-Barr com o desenvolvimento de linfomas em doentes com artrite reumatoide. Sabe-se que doentes com artrite reumatoide, têm maior risco de vir a desenvolver linfomas e que na maioria dos doentes com AR o linfoma difuso de grandes células B é o mais comum [62]. Concomitantemente, sabe-se também que o vírus Epstein-Barr está implicado no desenvolvimento de linfomas em doentes imunocomprometidos [58], sendo que se demonstrou que nos doentes com artrite reumatóide cerca de 15-40% dos linfomas têm genoma do vírus Epstein-Barr [63]. Pensa-se que esta associação possa ser explicada pela carga viral mais elevada nos doentes com artrite reumatoide, que em conjunto com os imunossupressores classicamente utilizados no tratamento da artrite reumatóide promovam o desenvolvimento de linfomas de células B [58].

Por isso, muito se tem especulado sobre a influência do tratamento imunossupressor na carga viral de EBV em circulação nos doentes com AR. Aquando da utilização de fármacos modificadores do curso da doença como o metotrexato durante 4 anos, observou-se uma redução na virémia de EBV em circulação [58]. No entanto, quando o foco recai sobre os antagonistas do TNF- α , como o etarnecept ou o infliximab, alguns estudos mostram que a carga viral de EBV tende a aumentar, aumentando a suspeita de que estes tratamentos podem contribuir para a reativação o vírus e contribuir para o desenvolvimento de linfomas [58].

No entanto, os resultados de vários estudos relativos à influência da terapêutica imunossupressor na carga viral de EBV têm sido algo discrepantes e por esse motivo ainda não se chegou a um consenso quanto a esta questão.

Conclusão

Ao longo desta revisão, demonstrou-se os vastos mecanismos que o vírus Epstein-Barr apresenta para levar ao desenvolvimento de autoimunidade, bem como as evidências epidemiológicas da sua associação causal com as doenças autoimunes.

Atendendo à elevada prevalência da infeção por este vírus e à escassez de tratamentos eficazes e livres de efeitos adversos nas doenças em foco nesta revisão, o reconhecimento da importância do vírus Epstein-Barr, bem como as suas vias de patogénese são de primordial importância para levar ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas para estas doenças, que possam em última análise melhorar a qualidade de vida e capacidade funcional destes doentes.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, não posso deixar o meu sincero agradecimento ao Dr. Tiago Marques que desde o primeiro momento esteve sempre disponível para me ajudar a levar este trabalho até ao fim.

Deixo ainda um agradecimento à Clínica Universitária de Doenças Infecciosas e em especial ao Hugo Caldeira por todas as dicas dadas que em muito contribuíram para o desenvolvimento desta revisão.

Referências Bibliográficas

- [1] Draborg, A.H.; Duus, K.; Houen, G. (2013). Epstein barr virus in systemic autoimmune diseases. *Clinical and developmental immunology*, Article ID 535738,
- [2] Disanto, G.; Chaplin, G.; Morahan, J.M.; Giovannoni, G.; Hypponen, E.; Ebers, G.C.; Ramagopalan, S.V.(2012). Month of birth, vitamin D and risk of immune mediated disease: A case control study. *BMC medicine* 10: 69;
- [3] Bogdanos, D.P.; Smyk, D.S.; Rigopoulou, E.I.; Mytilinaiou, M.G.; Heneghan, M.A.; Selmi, C.; Gershwin, M.E (2012). Twin studies in autoimmune disease: genetics, gender and environment. *Journal of Autoimmunity*, 38(2-3):156-169;
- [4] Lossius, A.; Johansen, J.N.; Torkildsen, O.; Vartdal, Frode; Holmoy, T (2012). Epstein-barr virus in systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and multiple sclerosis- Association and causation. *Viruses*, 4(12):3701-3730;
- [5] Dittfeld, A.; Gwizder, K.; Michalski, M.; Wojnicz, R. (2016). A possible link between the Epstein-barr virus infection and autoimmune thyroid disorders. *Central European Journal of Immunology*; 41(3):297-301;
- [6] Fust, G. (2011). The role of Epstein-barr virus in the pathogenesis of some autoimmune disorders – similarities and differences. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 1(4): 267-278;
- [7] James, J.A., Neas, B.R, Moser, K. L, (2001). Systemic lupus erythematosus in adults is associated with previous Epstein-Barr exposure. *Arthritis & Rheumatism*, 44(5):1122-6;
- [8] Auwaerter, P.G. (1999). Infectious mononucleosis in middle age. *Journal of the American Medical Association*, 281(5), 454-459;
- [9] Niller, H.H.; Wolf, H., Minarovits, J. (2008). Regulation and dysregulation of Epstein-Barr virus latency: implications for the development of autoimmune diseases. *Autoimmunity*, 41(4):298-328;
- [10] Tsurumi, T; Fujita, M; Kudoh, A. (2005). Latent and lytic Epstein-Barr virus replication strategies. *Reviews in medical virology*, 15(1):3-5;.
- [11] Straus, S.E.; Cohen, J.I; Tosato, G; Meier, J (1993). Epstein-Barr virus infections: biology, pathogenesis and management. *Annals of Internal Medicine*, 118(1):45-58;
- [12] Fernández-Menéndez, S.; Fernández-Morán, M.; Fernández-Veja, I.; Pérez-Alvarez, A.; Villafani-Echazú, J. (2016). Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. From evidence to therapeutic strategies. *Journal of the neurological sciences*, 361:213-9;

- [13] Ok, C.Y., Li, L.;Young, K.H., (2015). EBV- driven B-cell lymphoproliferative disorders: from biology, classification and differential diagnosis to clinical managements. *Exp.Mol. Med.*, 47:e132;
- [14] Draborg, A.H., Duus K., Houen,G.(2012).Epstein-barr vírus and systemic lupus erythematosus. *Clinical and Development Immunology*, 2012: 370516;
- [15] Thorley-Lawson, D. A. (2011). Epstein-Barr virus: exploiting the immune system. *Nature Reviews. Immunology*, 1 (1):75-82;
- [16] Babcock G. J., Hochberg D., Thorley-Lawson D. A. (2000).The expression pattern of Epstein-Barr virus latent genes in vivo is dependent upon the differentiation stage of the infected B cell. *Immunity*, 13(4):497-506;
- [17] Evans AS, Rothfield NF, Niederman JC, (1971). Raised antibody titres to E.B. virus in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1(7691):167-8.
- [18] Toussiro E, Roudier J, (2008). Epstein-Barr virus in autoimmune diseases. Best practice and research. *Clinical Rheumatology*. 22(5):883-96;
- [19] Halbert, S.P., Anken, M. (1982). Auto-antibodies in infectious mononucleosis, as determined by ELISA. *International archives of allergy and applied immunology*. 69(3):257-61;
- [20] Wucherpfennig, K.W. (2001).Mechanisms for the induction of autoimmunity by infectious agents. *Journal of Clinical Investigation*,108 (8):1097–1104;
- [21] S. Henderson, D. Huen, M. Rowe, C. Dawson, G. Johnson, Rickinson, A. (1993).Epstein-Barr virus-coded BHRF1 protein, a viral homologue of Bcl-2, protects human B cells from programmed cell death. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(18):8479-83;
- [22] Fujinami, R.S.; Oldstone, M.B.; Wroblewska, Z.; Frankel, M.E.; Koprowski, H.(1983). Molecular mimicry in virus infection: crossreaction of measles virus phosphoprotein or of herpes simplex virus protein with human intermediate filaments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 80(8): 2346–2350;
- [23] Nelson, P., Rylance, P., Roden, D., Trela, M., Tugnet, N. (2014). Viruses as potencial pathogenic agents in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 23(6):596-605;
- [24] Nelson, P., Freimanis, G., Roden, D. (2008). Human endogenous retroviruses; evolutionary dynamics, chromosomal location and host benefit. In: *Encyclopedia of life sciences*. pp1-6

- [25] Nelson, P., Hooley P., Roden, D,(2004). Human endogenous retroviruses:transposable elements with potential? *Clinical & Experimental Immunology* 138(1): 1–9.
- [26] Ahmad, P., Hamed, HK., Batool, Zamani,. (2017). Correlation between Epstein-Barr virus infection and disease activity of systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study. *Asian Pac Cancer Prev*,18(2): 523-527;
- [27] Fauci, AS., Morens DM., (2012). The perpetual challenge of infectious diseases. *New England journal of medicine*, 366: 454-461;
- [28] Judith A. James, Julie M. Robertson (2012). Lupus and Epstein-Barr. *Current Opinion Rheumatology*, 24(4): 383-388;
- [29] James JÁ., Kaufman KM., Farris AD., Taylor-Albert E., Lehman TJ., Harley JB. (1997). An increased prevalence of EpsteinBarr virus infection in young patients suggests a possible etiology for systemic lupus erythematosus. *The jornal of clinical investigation*, 100 (12):3019-26;
- [30] Harley JB, James JÁ. (2006) Epstein–Barr virus infection induces lupus autoimmunity. *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases*, 64(1-2): 45–50 ;
- [31] Yadav P., Tran, H., Ebegbe R., Gottheb P. (2011). Antibodies elicited in response to EBNA-1 may cross-react with dsDNA. *PLos One* 6:e14488
- [32] McClain MT, Rapp EC, Harley JB, James JA: Infectious mononucleosis patients temporarily recognize a unique, cross-reactive epitope of Epstein–Barr virus nuclear antigen-1. *J Med Virol* 70, 253–257 (2003)
- [33] McClain MT, Heinlen LD, Dennis GJ, Roebuck J, Harley JB, James JA: (2005).Early events in lupus humoral autoimmunity suggest initiation through molecular mimicry. *Nat Med* 11, 85–89
- [34] Arbuckle, MR., McClain, MT., Rubertone, MV., Scofield, RH., Dennis, GJ., Harley, JB. (2003). Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *New England Journal of medicine*, 349(16):1526-33.
- [35] Tsokos GC, Magrath IT, Balow JE.(1983). Epstein-Barr virus induces normal B cell responses but defective suppressor T cell responses in patients with systemic lupus erythematosus. *Journal of Immunology*. 131:1797–1801;
- [36] Kang I, Quan T, Nolasco H, Park SH, Hong MS, Crouch J, Pamer EG (2004). Defective control of latent Epstein–Barr virus infection in systemic lupus erythematosus. *Journal of immunology*, 172:1287–1294

- [37] Benito-León, J., Martín, E., Vela, L., Villar, M., Felgueroso, B., Marrero, C., Guerrero, A., Ruiz-Galiana, J., (1998). Multiple sclerosis in Mostoles, central Spain. *Acta Neurologica Scandinavica*, 98(4):238–242.
- [38] Stadelmann, C., Wegner, C., Brück, W., (2011). Inflammation, demyelination, and degeneration—recent insights from MS pathology. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1812(2):275–282.
- [39] Almohmeed, Y.H., Avenell, A., Aucott, L., Vickers, M.A., (2013). Systematic review and meta-analysis of the sero-epidemiological association between Epstein Barr virus and multiple sclerosis. *PloS One* 8 (4): e61110.
- [40] Hollenbach, J.A., Oksenberg, J.R. (2015). The immunogenetics of multiple sclerosis: a comprehensive review. *Journal of autoimmunity*. 64:13–25.
- [41] Fraser, K.B., Millar JHD, Haire M, McCrea S. (1979). Increased tendency to spontaneous in-vitro lymphocyte transformation in clinically active multiple sclerosis. *Lancet* 314:715–7.
- [42] Ascherio, A., Munger KL (2007). Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. *Annals of Neurology*, 61(4): 288 – 299;
- [43] Thacker, EL., Mirzaei F., Ascherio, A. (2006). Infectious mononucleosis and risk for multiple sclerosis: a meta-analysis. *Annals of Neurology*, 59 (3):499–503;
- [44] Ascherio, A, Munger KL. (2010). Epstein–Barr virus infection and multiple sclerosis: a review. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 5(3):271–277 ;
- [45] Ascherio, A., Munger, KL., Lennette, ET., Spiegelman, D., Hernan, MA., Olek, MJ., Hankinson, SE. (2001). Epstein–Barr virus antibodies risk of multiple sclerosis: a prospective study. *JAMA*, 286(24):3083-8.
- [46] Burnard, S., Lechner-Scott, J., Scott, J.R (2017). EBV and MS: Major cause, minor contribution or red-herring?. *Multiple sclerosis and related disorders* 16:24-30
- [47] Serafini, B., Rosicarelli, B., Franciotta, D., Magliozzi, R., Reynolds, R., Cinque, P., Andreoni, L., (2007). Dysregulated Epstein–Barr virus infection in the multiple sclerosis brain. *The journal of experimental medicine*, 204(12):2899-912;
- [48] Pender, M.P., (2003). Infection of autoreactive B lymphocytes with EBV, causing chronic autoimmune diseases. *Trends in Immunol.* 24 (11): 584–588;
- [49] Milo, R., (2016). Therapeutic strategies targeting B-cells in multiple sclerosis. *Autoimmunity reviews*, 15(7):714–718;

- [50] Humphreys JH, Verstappen SMM, Hyrich KL.(2013).The incidence of rheumatoid arthritis in the UK: comparisons using the 2010 ACR/EULAR classification criteria and the 1987 ACR classification criteria. Results from the Norfolk Arthritis Register. *Ann Rheum Dis*;72:1315–20;
- [51] Scott, D. L., Wolfe, F., Huizinga, T. W. J., (2010). Rheumatoid arthritis. *The Lancet*, 376(9746):1094-108;
- [52] Balandraud, N., Picard, C., Reviron, D.,(2013). HLA-DRB1 genotypes and the risk of developing anti-citrullinated protein antibody (ACPA) positive rheumatoid arthritis. *PloS One*;8:e64108;
- [53] Alsbaugh, MA., Henle, G., Lennette, ET.(1981). Elevated levels of antibodies to Epstein-Barr virus antigens in sera and synovial fluids of patients with rheumatoid arthritis. *The journal of clinical investigation*, 67(4): 1134–40;
- [54] Fox, R., Luppi, M., Pisa, P., Kang, HL.(1992) Potential role of Epstein-Barr virus I Sjo"gren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Journal of Rheumatology*,19:18e24;
- [55] Slaughter, L., Carson, DA., Jensen, FC., Holbrook, TL., Vaughan, JH.(1978) In vitro effects of Epstein Barr virus on peripheral blood mononuclear cells from patients with rheumatoid arthritis and normal subjects. *Journal of experimental Medicine*;148:1429e34;
- [56] Balandraud, N., Roudier, J.(2018) Epstein-Barr virus and rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*, 85(2):165-170;
- [57] Cornillet M, Verrouil E, Cantagrel A, et al. (2015). In ACPA-positive RA patients, antibodies to EBNA35-58Cit, a citrullinated peptide from the Epstein-Barr nuclear antigen-1, strongly cross-react with the peptide _60-74Cit, which bears the immunodominant epitope of citrullinated fibrin. *Immunol Res*; 61:117–25.
- [58] Toussirot, E. Roudier, J, (2007) Pathophysiological links between rheumatoid arthritis and the Epstein-barr virus: an update. *Joint Bone Spine* 74, 418-426
- [59] Anzilotti C, Merlini G, Pratesi F, Tommasi C, Chimenti D, Migliorini P. (2006). Antibodies to viral citrullinated peptide in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*; 33:647e51.
- [60] Merlini G, Anzilotti C, Chimenti D, et al. (2005). A deiminated viral peptide to detect antibodies in rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci*; 1050:243–9.
- [61] Zhang L, Nikkari S, Skurnik M, Ziegler T, Luukkainen R, Mo"tto"nen T, et al. (1993) Detection of herpes viruses by polymerase chain reaction in lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*; 36: 1080–6.
- [62] Balandraud N, Roudier J, Roudier C. (2005) What are the links between Epstein Barr virus, lymphoma, and tumor necrosis factor antagonism in rheumatoid arthritis? *Semin Arthritis Rheum*;34(Suppl 1):31e3.

[63] Mariette X, Cazals-Hatem D, Warszawski J, et al (2002). Lymphomas in rheumatoidarthritis patients treated with methotrexate: a 3-year prospective study inFrance. *Blood*;99:3909–15.